

## Research Article

# Sorption Isotherms of Iron in Alive and Dead Masses of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas putida*

N Varmaziar<sup>1\*</sup>, AA Safari Sinegani<sup>2</sup>

Received: August 14, 2023

Accepted: May 8, 2024

Revised: May 7, 2024

Published online: September 22, 2024

1- Former Graduate Student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

2- Prof., Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

\*Corresponding Author, Email: nooshin.varmaziyar@yahoo.com

## Abstract

### Background and Objectives

Increasing effluents production and discharging them as untreated into aqueous and terrestrial ecosystems, leads to contamination and imbalance of the ecosystems. Contaminants may include heavy metals or even nutritional elements. Small amounts of heavy metals such as iron (Fe) around living things are needed for their life, but high amounts of these metals are toxic and the accumulation of these metals in habitats is fatal for them. Bioremediation has been suggested as a clean technology, in which microorganisms are used in order to remove contaminants. Bacteria are efficient structures for metal ion detoxification due to their abundance, small size and large specific surface area. Also, they have high stability to survive in polluted habitats. In this research, the ability of two species of bacteria, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas putida*, which had a high capacity for the accumulation of metal ions, were compared in absorbing iron from aqueous solution in two living and non-living states, keeping the absorption efficiency characteristics constant. It is obvious that both alive or dead masses of these bacteria, which have a high function in absorbing and storing iron, can be used to make bio-purifiers or bio-fertilizers.

### Methodology

In this study, the effects of two bacterial species as alive or dead biomass were investigated on the biosorption of iron. Biomasses were prepared and purified from two species of bacteria, *Pseudomonas putida* and *Bacillus subtilis*. Their dead mass was made by sterilization. Moreover, a constant volume of 1.5 ml of the biomass of bacteria grown in broth media was isolated in the bottom of 2 ml vials. Then sorption isotherm experiments of Fe from iron solutions with different concentrations of 0, 5, 10, 20, 50, 75, 100, 120, 150 and 200 mgL<sup>-1</sup> in 0.01 M sodium nitrate as background solution and fixed pH value of 2.5 were investigated. In this research, by keeping constant the parameters affecting absorption such as initial pH and fixed volume of solution, amount of biomass, equilibrium time and temperature, the ability and speed of absorption by bacteria was tested only by increasing the concentration of Fe. Then, by measuring the differences in the amount of ions remaining in the solution from the initial amount used, the amount of absorbed ions was obtained. Linear, Langmuir, Freundlich and Temkin isotherm models were used to analyze the adsorption data. This was factorial experimental research with a completely randomized design that was done in three replications. The average absorption of Fe was tested by Duncan's Multiple Range method and SAS 9.4 software.

### Findings

The isotherm of iron absorption in bacteria showed that the maximum amounts of iron absorption in *Bacillus subtilis* in live and dead forms were 41.9 and 49.2 mg/g and in live and dead *Pseudomonas putida* were 24.6



and 25.1 mg/g, respectively. This shows the ability of *Bacillus subtilis* for absorption of iron from aqueous solution was higher than *Pseudomonas putida* by increasing Fe concentrations in constant pH, biomass quantity and temperature. On the other hand, the absorption of iron in the dead mass of bacteria compared to their live mass was higher. The isothermal investigations in elimination of iron metal from aqueous solution showed that among the tested models, the Linear, Freundlich and Temkin models were suitable. This study was done in 3 replicates, so the effect of experimental factors (bacteria species and viability) on the coefficients of the Linear, Freundlich and Temkin equations were also statistically tested. Among the experimental factors, only the bacterial species had significant effects on a and b coefficients of the Linear model and the  $B_t$  coefficient of the Temkin model, so the mean tests were only done for these parameters.

### Conclusion

Examining absorption diagrams and also testing coefficients a and b of Linear equations and  $B_t$  of Temkin showed that *Bacillus subtilis* has more affinity and better retention capacity to absorb iron from aqueous solutions. Examining the Temkin model coefficient showed that the heat released after the absorption process in this bacterium is less than *Pseudomonas putida*. However, *Bacillus subtilis* had higher capacity and affinity for absorption of iron than *Pseudomonas putida*, so it was a more suitable adsorbent in all Fe concentrations. The ability of the living and non-living masses of *Bacillus subtilis* to absorb iron makes it a good candidate for research in the fields of biomining of heavy metals, bioremediation of contaminated waters and/or making biofertilizers.

**Keywords:** Absorption, *Bacillus subtilis*, Iron, Isotherm, *Pseudomonas putida*.

## مقاله پژوهشی

### بررسی همدمای جذب آهن در توده زنده و مرده باسیلوس سوبتیلیس و سودوموناس پوتیدا

نوشین ورمزیار<sup>۱\*</sup>، علی اکبر صفری سنجانی<sup>۲</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۳

تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۳/۰۷/۰۱

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد مدیریت حاصلخیزی و زیست فناوری بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲- استاد، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

\*مسئول مکاتبات؛ پست الکترونیکی: nooshin.varmazyar@yahoo.com

#### چکیده

افزایش اندازه پساب‌ها و رها کردن بدون پالایش آنها در زیستگاه‌های آبی و خاکی مایه آلودگی و به هم زدن همسنگی در بوم سازها می‌شود. آلاینده‌های دشوارساز می‌تواند فلزهای سنگین و حتی عناصر غذایی باشند. زیست بهسازی به عنوان یک فناوری پاک پیشنهاد شده است که در آن از توده زیستی جانداران به گونه زنده یا مرده برای زدایش آلودگی‌ها بهره‌گیری می‌کنند. در این پژوهش پیامد گونه ریزجاندار باکتری و زنده بودن آن بر جذب زیستی عنصر سنگین آهن بررسی شد. توده‌های زیستی از دو گونه باکتری آماده و ناب‌سازی شد. پس از انبوه سازی، توده مرده آن‌ها به کمک سترون سازی آماده شد. آزمون همدمای جذب آهن در محلول زمینه نیترات سدیم ۰/۰۱ مولار با pH ثابت ۲/۵ بررسی گردید. بررسی همدمای جذب آهن در باکتری‌ها نشان داد، مدل خطی بهتر از دیگر مدل‌ها بر داده‌های آن برآزش می‌شود. بیش‌ترین اندازه جذب آهن در باکتری باسیلوس در دو ریخت زنده و مرده به ترتیب به اندازه ۴۱/۹ و ۴۹/۲ میلی گرم در گرم و بیش‌ترین اندازه جذب آهن در توده زنده و مرده باکتری سودوموناس به ترتیب با اندازه ۲۴/۶ و ۲۵/۱ میلی گرم در گرم بود. پیامد فاکتور زنده بودن توده زیستی بر جذب عنصر آهن در زیست توده باکتریایی از دیدگاه آماری چشمگیر نبود ولی در برابر باکتری گرم منفی سودوموناس پوتیدا، باکتری گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس جاذب شایسته‌تری برای یون آهن بود که می‌تواند نامزد خوبی برای تحقیقات در زمینه‌های زیست کاوی فلزات سنگین، زیست پالایی آب‌های آلوده و/ یا ساخت کودهای زیستی آهن باشد.

واژه‌های کلیدی: آهن، باسیلوس سوبتیلیس، جذب، سودوموناس پوتیدا، همدا.

## مقدمه

آلودگی فلزهای سنگین هم اکنون یک دشواری بزرگ زیستگاه است؛ زیرا یون‌های فلزی به دلیل سرشت غیر قابل تجزیه در محیط باقی می‌مانند. زهری بودن و تمایل به انباشت زیستی فلزهای سنگین در محیط، تهدیدی جدی برای سلامت جانداران زنده است. برخلاف آلاینده‌های آلی، فلزهای سنگین نمی‌توانند بوسیله فرآیندهای شیمیایی یا زیستی فروزینه شوند. از این رو، آنها فقط می‌توانند به گونه‌های کمتر سمی تبدیل شوند (آیانگنرو و بابالولا ۲۰۱۷). بسیاری از صنایع مانند نساجی، صنایع خودروسازی، هوانوردی و فولاد، مقادیر زیادی پساب دارای غلظت‌های مختلف آهن تولید می‌کنند (ابراهیم ۲۰۱۵). انباشت آهن در جانداران زنده سبب دشواری‌های سلامتی شدید مانند نارسایی کلیه، سرطان، اسیدوز متابولیک و زخم معده می‌شود. آهن در حضور آب و اکسیژن خورده و منجر به تشکیل اکسیدهای هیدراته می‌شود. از این رو لازم است آهن را از پساب‌ها تا سطوح قابل قبول زدود (کانامارلاپودی و مودادا ۲۰۲۰). همچنین آهن برای بسیاری از سیستم‌های زیستی هم زهری و هم حیاتی است. طبق اعلام سازمان جهانی بهداشت، غلظت مجاز آهن در آب آشامیدنی ۰/۳ میلی گرم در لیتر است (سلانتیا و همکاران ۲۰۰۴). روش‌های رایجی که برای جداسازی فلزهای سنگین از پساب‌ها استفاده شده‌اند؛ شامل رسوب شیمیایی، تبادل یونی، جذب روی کربن فعال، فرآیندهای غشایی و روش‌های الکترولیتی است که هر یک دارای شایستگی‌ها و کاستی‌هایی هستند (هنز و همکاران ۱۹۹۷). بیش‌تر این روش‌های رایج، از کاستی‌هایی مانند: هزینه بالای عملیات، دفع لجن فلزی باقی‌مانده و نامناسب بودن برای صنایع کوچک برخوردارند (کوبیا و همکاران ۲۰۰۵). پرکاربردترین جذب، کربن فعال است. با این حال، به دلیل هزینه تولید و بازسازی آن، کاربرد آن به طور گسترده در سال‌های اخیر محدود شده است. بنابراین، یافتن فن‌آوری‌های جایگزین مقرون به صرفه برای

زدودن یون‌های فلزهای سنگین از پساب ضروری است (ال-ناگار و همکاران ۲۰۱۸). تاکنون در جهان از رویکردها و روش‌های گوناگونی برای زدودن اندازه بالای آهن در آب بهره‌گیری شده است که یکی از این روش‌ها، روش‌های زیستی است که به آنها روهمرفته زیست بهسازی گفته می‌شود. زیست بهسازی بهره‌گیری از ریزجانداران، برای زدودن آلاینده‌های گوناگون از آب است (کای و همکاران ۲۰۱۵، کین و همکاران ۲۰۰۹). این روش به دلیل مزایایی مانند: هزینه کم، در دسترس بودن، جذب انتخابی یون‌های فلزی، زمان عملیات کوتاه، عدم انتخاب‌پذیری و امکان بازسازی مواد در مقایسه با روش‌های معمولی، اعتبار مهمی در سال‌های اخیر به دست آورده است (هانگ و لو ۲۰۱۳). در فرآیند جذب زیستی از مواد طبیعی ویژه‌ای با خاستگاه زیستی مانند: باکتری‌ها، قارچ‌ها، مخمرها، جلبک‌ها، گیاهان و مانده‌های آنها بهره‌گیری می‌کنند که این جاذب‌های زیستی می‌توانند به گونه کارا یون‌های فلزی محلول را از آب‌گونه‌های پیچیده رقیق، با کارایی بالا و تند جدا کنند، بنابراین یک گزینه شایسته برای پالایش پساب‌های با حجم بالا و غلظت کم است (وانگ و چن ۲۰۰۶). دلیل تمرکز بر روی مواد زیستی این است که دیواره سلولی این نوع جاذب‌های زیستی دارای پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌هایی با گروه‌های عاملی مختلف مانند آمین، کربوکسیل، هیدروکسیل، سولفات‌ها و فسفات‌ها هستند که مسئول برهمکنش با یون‌های فلزی‌اند. بتازگی توجه به زیست توده باکتریایی برای زدودن فلزهای سنگین از محلول آبی متمرکز شده است (ویجایارقاوان و یون ۲۰۰۸). باکتری‌ها گروه بزرگی از جانداران زنده تک سلولی متعلق به پروکاریوت‌ها هستند که در همه جا در خاک و آب وجود دارند و با اندازه کوچک و سطح ویژه بزرگ، برای استفاده به عنوان ماده جاذب بسیار مناسب هستند (زوبولیس و همکاران ۲۰۰۴). همچنین امروزه طیف گسترده‌ای از ریزجانداران زنده، به ویژه باکتری‌ها را می‌توان به عنوان کودهای زیستی استفاده کرد و

آهن می‌تواند همانند یک کود زیستی در کشاورزی کاربرد داشته باشد.

### مواد و روش‌ها

#### ریزجانداران و شرایط رشد

در این پژوهش از دو گونه باکتری *سودوموناس پوتیدا* و *باسیلوس سوبتیلیس*، بر پایه پژوهش‌های پیشین بهره‌گیری شد (ناکاجیما و تسوراتا ۲۰۰۴، اوسلو تانیول ۲۰۰۶، پارود و همکاران ۲۰۰۳، ناکاجیما و همکاران ۲۰۰۱ و چن و همکاران ۲۰۰۵). آمپول‌های لیوفیلیزه دو باکتری *سودوموناس پوتیدا* و *باسیلوس سوبتیلیس* بکار رفته در این پژوهش از مرکز کلکسیون ریزجاندارانی صنعتی ایران به ترتیب با کد 'PTCC'، ۱۶۹۴ و ۱۷۱۵ خریداری شد و در یخچال (۲ تا ۶ درجه سلسیوس) نگهداری شد. برپایه راهنمای آن پس از باز کردن آمپول لیوفیلیزه و ساخت سوسپانسیون از پودر باکتری‌ها، به دو روش کشت خطی<sup>۲</sup> و ریختن در پلیت<sup>۳</sup> بر پتری دیش‌های دارای کشتگاه نوترینت آگار از پیش آماده شده، کشت انجام شد (صفری سنجانی و همکاران ۲۰۱۰). سپس پتری‌ها برای ۲۴ تا ۴۸ ساعت در گرمخانه (انکوباتور) به گونه وارونه در دمای ۲۶ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد خوابانیده شدند تا کلنی‌ها پدید آیند. کشت خطی باکتری‌ها از کلنی‌های تکی به دست آمده از کشت نخست انجام شد و این کار برای رسیدن به کشت خالص برای چندین بار تکرار شد و مورفولوژی کلنی‌های پدید آمده بررسی شد. برای جلوگیری از، از دست دادن باکتری‌های خالص شده و برای نگهداری سویه‌ها، سوسپانسیونی از آن‌ها در آب مقطر سترون آماده و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. همچنین برای جلوگیری از آلودگی باکتری‌های کشت شده در پتری دیش، کشت هر یک از سویه‌ها روی آگار کج انجام شد و ماهیانه کشت دوباره آنها برای جوان سازی انجام شد. برای انبوه سازی باکتری‌ها در آغاز کشت چمنی

حاصلخیزی خاک را بدون ایجاد آلودگی به دلیل تجزیه زیستی آنها افزایش داد. بنابراین کودهای زیستی استخراج شده از ریزجانداران زنده یا بقایای آنها به طور فزاینده‌ای به جای کودهای شیمیایی که باعث تجمع فلزات سنگین در خاک می‌شوند؛ استفاده می‌شود (کور و همکاران ۲۰۲۰). بی شک اگر باکتری‌هایی که توانایی جذب فلزات سنگین از آب‌های آلوده را دارند؛ پس از جداسازی به عنوان کود زیستی به خاک بازگردند، نقش حیاتی در بالا بردن مواد مغذی خاک خواهند داشت. تاکنون بررسی‌های زیادی روی ویژگی‌های گونه‌های مختلف باکتری‌ها برای جذب آلاینده‌هایی مانند: روی، مس (صبایی و همکاران ۲۰۰۶، چن و همکاران ۲۰۰۵ و هنزا و کومار ۲۰۱۵)، کادمیوم (گول و همکاران ۲۰۰۹، کوتوراس و همکاران ۱۹۹۲) و غیره انجام شده و در این میان، گنجایش بالای دو باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* و *سودوموناس پوتیدا* برای انباشتگی گسترده وسیعی از گونه‌های فلزی شرح داده شده است. اما تعداد کمی از بررسی‌ها، ویژگی‌های سلول‌های زنده و غیرزنده را بر روی جذب زیستی فلزها از محلول‌های آبی بررسی کرده‌اند. علاوه بر این، کارایی هر جذب زیستی به ویژگی‌های زیست توده، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی فلزات هدف pH اولیه محلول، دما و برهمکنش با یون‌های دیگر و غیره بستگی دارد (تروس و همکاران ۱۹۹۵) که در این پژوهش با ثابت نگه داشتن دما، pH و اندازه زیست توده باکتری توان و تندی جذب دو گونه باکتری در دو حالت زنده و غیرزنده آزمون شد. هدف از این پژوهش سنجش توان دو گونه باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* و *سودوموناس پوتیدا* در جذب آهن از محلول آبی بود که به دو گونه زنده و غیرزنده، با ثابت نگه داشتن ویژگی‌های کارا بر جذب انجام شده است. با این کار افزون بر شناسایی بهترین باکتری برای بهسازی آب‌های آلوده به فلز آهن؛ خود باکتری پس از انباشت

<sup>3</sup>. Pour plate method

<sup>1</sup>. Persian Type Culture Collection

<sup>2</sup>. Streak plate method

شد (قاسمی و همکاران ۲۰۱۶). برای ساخت محلول‌ها با غلظت افزایشی هم، از محلول نیترات سدیم ۰/۰۱ مولار که از نمک نیترات سدیم ساخته شده بود، همانند الکترولیت با توان یونی ثابت بهره‌گیری شد. pH محلول-ها به کمک سود (NaOH) و اسید کلریدریک (HCL) روی ۲/۵ تنظیم شد که برای آن از دستگاه pH متر رو میزی مدل AZ 86502 بهره‌گیری شد (لاند و همکاران ۲۰۱۴).

**آزمون همدمای جذب توده زنده و غیر زنده باکتری‌ها**  
پتانسیل جذب توده زنده و غیرزنده باکتری‌های *سودوموناس پوتیدا* و *باسیلوس سوبتیلیس* برای یون آهن (III) بررسی شد. برای آزمون همدمای جذب عناصر از روش گزارش شده و بهبود یافته هوانگ و همکاران (۲۰۰۵) بهره‌گیری شد. در آغاز بر باکتری‌های شسته شده ته ویال‌های ۲ میلی لیتری، ۱/۵ میلی لیتر از هر کدام از محلول‌های آهن با غلظت‌های یاد شده ریخته و ورتکس شد. سپس در دمای ثابت ۳۰ درجه سلسیوس برای دو ساعت (زمان همسنگ شدن یا تعادل) تکان داده شد. پس از آن ویال‌ها برای ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردیدند. پس از ته نشینی توده باکتری‌ها، به کمک سمپلر ۱ میلی لیتر از محلول روشن رویین برداشته شد و اندازه آهن مانده در هر یک از ویال‌های دارای باکتری و محلول جداگانه عناصر (بدون باکتری) با دستگاه جذب اتمی Spectra-AA-220-Varian ارزیابی شد و به کمک رابطه زیر اندازه یون‌های جذب شده در باکتری، با کم کردن اندازه مانده در محلول از اندازه آغازین یا بکار رفته به دست آمد:

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{W} \quad [1]$$

که در آن:

$Q_e$ : اندازه یون جذب شده ( $\text{mg g}^{-1}$ ),  $C_0$ : اندازه نخستین یون ( $\text{mg L}^{-1}$ ),  $C_e$ : اندازه تعادلی یون ( $\text{mg L}^{-1}$ ),  $V$ : حجم محلول (L),  $W$ : جرم توده زیستی (g) (شکوهی و همکاران ۲۰۰۹). در این آزمایش، برای

باکتری‌ها در کشتگاه جامد نوترینت آگار انجام شد و تا زمان پدید آمدن و رشد بسنده باکتری‌ها به گونه وارونه در گرمخانه خوابانیده شدند. پس از رشد بسنده باکتری-های کشت شده به گونه چمنی، از پودر آماده کشتگاه نوترینت براث برای انبوه سازی باکتری‌ها در کشتگاه آبکی بهره‌گیری شد. کشتگاه نوترینت براث در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد پس از آنکه کشتگاه آبکی موجود در ارلن مایر، به دمایی نزدیک به دمای آزمایشگاه رسید در زیر هود و در شرایط سترون به کمک لوپ سترون چندین لوپ از کشت چمنی هر یک از باکتری‌ها برداشته شد و به کشتگاه آبکی به گونه جداگانه مایه زنی شد. سپس هر یک از باکتری‌ها برای ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد در کشتگاه آبکی نوترینت براث بر انکوباتور شیکردار با دور ۱۵۰ g رشد داده شد (انصاری و مالیک ۲۰۰۷). برای جداسازی زیست توده زنده در شرایط سترون و به کمک سمپلر، اندازه ۱/۵ میلی لیتر از کشتگاه دارای باکتری به ویال‌های ۲ میلی لیتری سترون ترابری شد. نیاز به یادآوری است پیش از هر بار برداشتن زیست توده آبکی کار هم زدن و یکنواختی کشتگاه انجام شد. سپس ویال‌ها دارای باکتری برای ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و کار شستشوی باکتری‌ها با آب مقطر سترون برای ۳ بار انجام شد. پس از شستشو و سانتریفیوژ زیست توده باکتری‌ها نیمی از ویال‌های بسته به هر باکتری در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد برای ۱۵ دقیقه برای ساختن زیست توده مرده اتوکلاو شدند (موهاپاترا و همکاران ۲۰۱۹).

### ساخت محلول‌های یون آهن (III)

محلول مادر آهن (III) با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از نمک کلرید آهن یا کلروفریک ۶ آب (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) با حل کردن در محلول نیترات سدیم (NaNO<sub>3</sub>) ۰/۰۱ مولار آماده شد. سپس محلول‌های آهن با غلظت‌های گوناگون (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۲۰۰) میلی‌گرم در لیتر با رقیق کردن محلول مادر تازه ساخته

همدمای جذب لانگمویر خطی شده با معادله زیر نشان داده می‌شود (لانگمویر ۱۹۱۶):

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{K_f Q_m} + \frac{C_e}{Q_m} \quad [5]$$

که در آن  $C_e$  غلظت تعادلی در فاز محلول،  $q_m$  بیش‌ترین اندازه ماده جذب شده بر یک واحد از جرم جذب کننده برای ساخت یک لایه در روی آن،  $q_e$  اندازه تعادلی ماده جذب شده بر یک واحد از جرم جذب کننده و  $K_f$  ثابت لانگ مویر می‌باشد (لانگمویر ۱۹۱۸). ثابت‌های  $K_f$  و  $Q_m$  به کمک شیب و عرض از مبدا نمودار خطی لانگمویر  $C_e^{-1}$  در برابر  $q_e^{-1}$  برآورد می‌شود. ریخت خطی همدمای جذب فروندلیچ به گونه زیر است (فروندلیچ ۱۹۰۷):

[۶]

$$\log q_e = \log K_f + \left(\frac{1}{n}\right) \log C_e$$

که در آن  $C_e$  غلظت تعادلی،  $K_f$  ثابت فروندلیچ ( $\text{mg g}^{-1}$ )،  $(L \text{ g}^{-1})^{1/n}$  که نشان دهنده گنجایش جذب تک لایه در غلظت اندک است و  $n$  ثابتی است که به ناهمگنی رویه جذب کننده وابسته است.  $K_f$  و  $\frac{1}{n}$  پارامترهای بسته به دما هستند (آدامسون و گاست ۱۹۹۷، مان و همکاران ۲۰۰۷، لو و همکاران ۲۰۱۰ و بوتیستا و همکاران ۲۰۰۲). مقادیر  $K_f$  و  $n$  از نمودار خطی  $\log q_e$  در مقابل  $\log C_e$  برآورد می‌شود.

ریخت خطی معادله خطی تمکین به گونه زیر است (تمکین و پژو ۱۹۴۰):

$$q_e = B \ln A + B \ln C_e \quad [7]$$

که در آن  $B = \frac{RT}{b}$ ،  $R$  ثابت جهانی گازها ( $\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ )،  $T$  دمای مطلق ( $\text{K}^\circ$ )،  $b$  گرمای واکنش ( $\text{J mol}^{-1}$ )،  $A$  ثابت همدمای تمکین ( $\text{L mg}^{-1}$ ) است و  $B$  ثابت نشان دهنده گرمای جذب و بدون واحد است. ثابت‌های  $A$  و  $B$  از شیب به دست می‌آیند و با رسم اندازه جذب

سنجش شمار یاخته باکتری‌ها و برآورد جرم آنها از روش استاندارد مک فارلند<sup>۴</sup> بهره‌گیری شد (مک فارلند ۱۹۰۷).

### مدل‌های تجربی همدمای جذب

برای تحلیل برازش داده‌ها از مدل‌های همدمای جذب یعنی خطی، لانگمویر، فروندلیچ و تمکین بهره‌گیری شد. داده‌های جذب آهن در دو ریخت توده زنده و مرده برای دو باکتری *Soromonas potida* و *Bacillus subtilis* بر هر چهار مدل برازش داده شد. داده‌های جذب آهن در دما، pH و اندازه زیست توده باکتری ثابت بدست آمد. سپس برای هر مدل جذب به گونه جداگانه ضرایب تبیین ( $R^2$ ) و ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE)، به کمک برنامه SAS برآورد شد:

$$R^2 = 1 - \quad [2]$$

$$\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2}$$

که  $y_i$  متغییر وابسته مشاهده شده و  $\hat{y}_i$  متغییر وابسته پیش بینی شده است.

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{x}_i - x_i)^2}{n}} \quad [3]$$

که  $\hat{x}$  و  $x$  به ترتیب جذب اندازه‌گیری شده و برآورد شده و  $n$  شمار داده‌ها یا نقطه‌های ارزیابی شده است.

$$\frac{R^2}{\text{RMSE}} \quad [4]$$

در این پژوهش مدل‌هایی برگزیده شد که بالاترین ضریب تبیین و کمترین ریشه میانگین مربعات خطا را داشته باشند. سپس ضرایب هر مدل بهینه برای هر تکرار بدست آمد.

4. McFarland Standard

### نتایج و بحث

به کمک مدل‌سازی داده‌های تعادلی، می‌توان رفتار جذبی در جاذب‌های زیستی را پیش‌بینی کرد. این می‌تواند برای کاربردهای صنعتی سودمند باشد (کویینتلاس و همکاران ۲۰۰۹). به کمک آن می‌توان شناسه‌های گوناگون جذب را با برآزش داده‌های تجربی و آزمایشگاهی با مدل نظری برآورد کرد (بیشنوئی و همکاران ۲۰۰۷). جذب یون‌های فلزی بر زیست‌توده و یون‌های فلزی مانده در محلول با مدل‌های جذب زیستی کلاسیک به خوبی بیان شده‌است (کانامارلاپودی و مودادا ۲۰۲۰). جدول ۱ ضرایب تبیین و ریشه میانگین مربعات خطا داده‌های همدمای جذب آهن بر توده زیستی باکتری‌ها را نشان می‌دهد. برای گزینش مدل شایسته، ابتدا میانگین ضرایب تبیین و ریشه میانگین مربعات خطاها برای هر مدل برآورد شد و سپس در ردیف آخر نسبت آن‌ها بر هم برای هر مدل به گونه جداگانه بدست آمد. در میان مدل‌های کار شده بر پایه ضرایب تبیین و نسبت ضریب تبیین به ریشه میانگین مربعات خطا، سه مدل خطی، فروندلیچ و تمکین بهتر بود؛ که در میان سه مدل یاد شده مدل خطی با دارا بودن بالاترین ضریب تبیین و نسبت ضریب تبیین به ریشه میانگین مربعات خطا، برآزش بهتری بر داده‌های جذب آهن داشت (جدول ۱).

شده  $q_e$  در برابر  $\ln Ce$  بدست می‌آیند (بانسال و گوپال ۲۰۰۵).

### آزمون آماری داده‌های جذب عناصر در توده زنده و غیرزنده باکتری‌ها

این پژوهش آزمایشی فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی بود که در سه تکرار انجام شد. فاکتور یکم گونه ریزجاندار و فاکتور دوم زنده بودن آن بود. تیمار یکم باکتری *سودوموناس پوتیدا* و تیمار دوم باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* بوده است. فاکتور دوم زنده یا مرده بودن باکتری بود. بنابراین جذب فلز بر یاخته این باکتری‌ها به دو گونه زنده و کشته شده در اتوکلاو آزمایش شد. هر باکتری زنده یا مرده یک جذب کننده بود که در سه تکرار، هر یک از ده غلظت آهن به آنها افزوده شد و جذب اندازه‌گیری شد. پس از برآزش داده‌های هر تکرار، به هر یک از مدل‌های جذب، مدل‌های شایسته بر پایه بالاترین ضریب تبیین و کمترین ریشه میانگین مربعات خطا (نسبت  $R^2/RMSE$  بالا) گزینش شد. سپس ضریب‌های جذب برای هر مدل برگزیده، در سه تکرار برای هر تیمار (جذب کننده) بدست آمد. این داده‌ها در آزمون کولموگروف-اسمیرنوف توزیع نرمال داشتند که پس از تجزیه واریانس هر ضریب، آزمون میانگین آن در تیماری که اثر چشم‌گیر داشت، با روش دانکن و با نرم افزار SAS ۹/۴ انجام شد.

جدول ۱- ضرایب تبیین و ریشه میانگین مربعات خطا داده‌های همدمای جذب آهن بر توده زیستی باکتری‌ها.

تمکین		فروندلیچ		مدل لانگمویر		مدل خطی		همدمای جذب آهن
RMSE	$R^2$	RMSE	$R^2$	RMSE	$R^2$	RMSE	$R^2$	
۳	۰/۹۰۱	۲/۴۸	۰/۷۲۰	۲۸/۵	۰/۶۳۲	۲/۰۲	۰/۹۲۸	سودوموناس زنده
۴/۷۱	۰/۷۵۷	۴/۵۲	۰/۸۳۳	۳/۸۵	۰/۷۵۸	۴/۳۳	۰/۷۳۸	سودوموناس مرده
۸/۰۴	۰/۷۲۹	۶/۱۸	۰/۷۶۰	۴/۸۱	۰/۴۰۷	۴/۵۰	۰/۹۰۹	باسیلوس زنده
۹/۷۷	۰/۷۵۳	۱۱/۶	۰/۸۸۱	۷/۴۸	۰/۸۲۲	۱۱/۲۱	۰/۵۷۶	باسیلوس مرده
۶/۳۸	۰/۷۸۵	۶/۱۹	۰/۷۹۹	۱۱/۱۵	۰/۶۵۵	۵/۵۱	۰/۷۹۰	میانگین
							$R^2$	
	۰/۱۲۳		۰/۱۲۹		۰/۰۵۹		۰/۱۴۳	$RMSE$



باشد. آشکار است که غلظت‌های بکاررفته در این پژوهش به اندازه‌ای نبوده است که توده باکتری‌ها به گام سیری جذب برسند. به هر گونه بهینه بودن جذب با مدل خطی هم گونه‌ای از مدل فروندلیچ است که در آن جذب تعادلی رخ داده است و کشش آهن برای محلول بودن و جذب شدن بر توده زیستی ناهمانندی چندانی ندارد.

**پیامد گونه باکتری و زنده بودن بر ضریب معادله‌های خطی، فروندلیچ و تمکین در جذب غلظت‌های گوناگون آهن**

جدول ۲ تجزیه واریانس پیامد گونه باکتری، زنده یا مرده بودن زیست توده و برهم کنش آن‌ها بر ضرایب معادله‌های خطی، فروندلیچ و تمکین را نشان می‌دهد. از آنجایی که بر هم کنش دو فاکتور چشمگیر نبود، آزمون میانگین بر روی فاکتور گونه باکتری بر ضریب a و b مدل خطی به روش دانکن انجام شد. همچنین پیامد گونه باکتری بر ضریب B<sub>t</sub> مدل تمکین در پایه آماری ۱ درصد چشمگیر بوده و آزمون آماری بر این ضریب نیز انجام شد.

کانامارلاپودی و مودادا (۲۰۲۰) از زیست توده *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*<sup>۵</sup> همانند زیست جذب برای جذب زیستی یون‌های آهن فرو از محلول‌های آبی بهره‌گیری کردند. آزمون‌های جذب زیستی دسته‌ای را با غلظت‌های گوناگون آغازین یون آهن فرو، اندازه جذب، pH و فواصل زمانی گوناگون انجام دادند.

بیش‌ترین گنجایش جذب زیستی در هر گرم از جذب زیستی برای یون‌های آهن فرو در غلظت زیست توده ۱ گرم در لیتر، پی‌اچ ۵/۴، زمان تماس ۲۴ ساعت و غلظت آغازین یون آهن فرو ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر؛ ۷/۲۵ میلی‌گرم در هر گرم جذب کننده اندازه‌گیری کردند. همچنین به کمک طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه<sup>۶</sup> نشان دادند که گروه‌های عاملی هیدروکسیل، آمینی و کربوکسیل در جذب زیستی یون‌های آهن نقش دارند. در بررسی انجام شده آن‌ها بهترین معادله برازش داده شده بر داده‌های جذب آهن فرو معادله فروندلیچ بود ولی در این بررسی مدل خطی بهترین برازش را برای داده‌های جذب آهن داشت (کانامارلاپودی و مودادا ۲۰۲۰). این شاید به غلظت آهن بکار رفته در این آزمایش‌ها وابسته

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربع‌ها) پیامد گونه باکتری، زنده یا مرده بودن زیست توده و

برهم کنش آن‌ها بر ضرایب معادله‌های خطی، فروندلیچ و تمکین در جذب آهن.

منبع دگرگونی	عنصر آهن	مدل خطی	مدل فروندلیچ	مدل تمکین			
	درجه آزادی	A(mg g <sup>-1</sup> )	B(L mg <sup>-1</sup> )	n(L mg <sup>-1</sup> )	K <sub>f</sub> (mg g <sup>-1</sup> )	K <sub>i</sub> (L mg <sup>-1</sup> )	B <sub>t</sub>
گونه باکتری	۱	۰/۰۷۶*	۰/۰۵۶**	۰/۰۳۶ <sup>ns</sup>	۰/۶۱۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۴۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۳۹**
زنده بودن	۱	۰/۰۳۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۱۱۹ <sup>ns</sup>	۱/۲۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰ <sup>ns</sup>
بر هم کنش	۱	۰/۰۱۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۲۴۸ <sup>ns</sup>	۰/۱۶۳ <sup>ns</sup>	۰/۱۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۴ <sup>ns</sup>

۶. FTIR

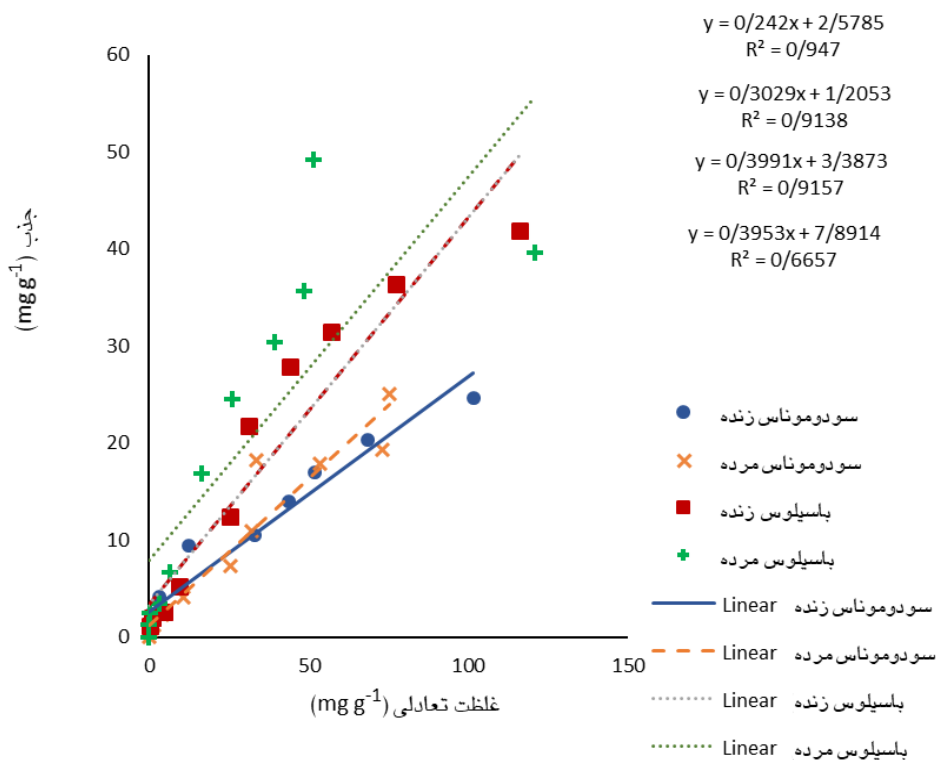
۵. *Lactobacillus fermentum*

خطا	۸	۰/۰۰۸	۰/۰۰۱	۰/۰۸۹	۲/۵۶	۰/۱۶۲	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (%)	۳۲/۲	۱۱/۳	۲۰	۳۸/۱	۵۱/۳	۱۸/۳	

\* و \*\* به ترتیب نشان گر پیامد چشمگیر در پایه آماری ۵ و ۱ درصد . ns : بدون پیامد چشمگیر

شکل ۱ مدل خطی جذب آهن بر زیست توده زنده و مرده باکتری سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سوبتیلیس را نشان می‌دهد. در این نمودار معادله‌های خط برای

شکل ۱ مدل خطی جذب آهن بر زیست توده زنده و مرده باکتری سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سوبتیلیس را نشان می‌دهد. در این نمودار معادله‌های خط برای



شکل ۱- همدمای خطی جذب آهن بر توده زنده و مرده باکتری‌های سودوموناس پوتیدا و باسیلوس

### سوبتیلیس.

سودوموناس جذب کرده است. سلانتیا و همکاران (۲۰۰۴) هم در بررسی جذب زیستی آهن فریک به کمک توده مرده زیست جاذب استرپتومایسس ریموسوس<sup>۷</sup> تیمار شده با NaOH نشان دادند که غلظت یونی آهن (III) در محلول با مقدار جذب شده در هر گرم جاذب متناسب است. به بیان دیگر با افزایش غلظت آغازین یون آهن (III) مقدار جذب شده در واحد جرم زیست جاذب افزایش یافته تا به سطح اشباع مکان‌های فعال زیست

برازش خوب داده‌های جذب بر مدل خطی در توده زنده و مرده سودوموناس پوتیدا و توده زنده باسیلوس سوبتیلیس نشان می‌دهد که با افزایش غلظت تعادلی آهن در زیستگاه باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس به ریخت‌های زنده و مرده، جذب آهن به گونه خطی افزایش می‌یابد. بالاترین ضریب تبیین نیز در ریخت زنده باکتری سودوموناس دیده شد ولی روهمرفته در هر غلظت توده زنده و مرده باسیلوس، آهن بیشتری را در برابر باکتری

7. *Streptomyces rimosus*

و بیشینه مقدار جذب شده روی زیست توده ۱۲۲ میلی گرم در هر گرم جاذب اندازه برآورد شده است. جذب، در توده زنده و مرده هر باکتری به گونه جداگانه نشان داده شد، جذب آهن در توده مرده باکتری‌ها در برابر توده زنده آنها بالاتر است. لی و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهشی ظرفیت جذب یا راندمان زدودن کروم (II) را با توده زنده و غیر زنده *کاپریاویدوس نکاتور*<sup>۸</sup> مورد ارزیابی قرار دادند. از آنجایی که توان جذب کروم به کمک توده زیستی مرده بالاتر بود؛ یافته‌های آنها با پژوهش ما همخوانی داشته است.

در جدول ۳ آزمون میانگین ضریب‌های مدل خطی جذب آهن آمده است. آزمون میانگین ضریب *a* مدل خطی جذب آهن بر زیست توده باکتری نشان داد که توان نگهداری عنصر آهن در باکتری *باسیلیوس سوبتیلیس* (۶/۲۶) بیشتر از *سودوموناس پوتیدا* (۲/۹۶) است و عنصر جذب شده در این باکتری بسختی دوباره رها می‌شود. همچنین ضریب *b* که نشان دهنده کشش جاذب برای گرفتن آهن از آبگوه است، باز در باکتری *باسیلیوس سوبتیلیس* (۰/۳۷۵) بیشتر از *سودوموناس پوتیدا* (۰/۲۳۸) بوده است.

توده و بیشینه ظرفیت جذب دست یابد. در پژوهش آنها غلظت اولیه از ۲۰ تا ۷۰۰ میلی گرم در لیتر افزایش یافته جرم زیست جاذب افزایش یافته تا به سطح اشباع مکان‌های فعال زیست توده و بیشینه ظرفیت جذب دست یابد. در پژوهش آنها غلظت اولیه از ۲۰ تا ۷۰۰ میلی گرم در لیتر افزایش یافته و بیشینه مقدار جذب شده روی زیست توده ۱۲۲ میلی گرم در هر گرم جاذب اندازه برآورد شده است.

در پژوهش ما غلظت‌های اولیه ۰ تا ۲۰۰ میلی گرم در لیتر در نظر گرفته شده است. بیش‌ترین اندازه جذب آهن در باکتری *باسیلیوس* در دو ریخت زنده و مرده به ترتیب به اندازه ۴۱/۹ و ۴۹/۲ میلی گرم در گرم و بیش‌ترین اندازه جذب آهن در توده زنده و مرده باکتری *سودوموناس* به ترتیب با اندازه ۲۴/۶ و ۲۵/۱ میلی گرم در گرم است. این نشان دهنده توانایی بالاتر باکتری *باسیلیوس سوبتیلیس* در جذب آهن با افزایش غلظت آهن در زیستگاه با ثابت نگه داشتن دیگر فراسنجه‌های کارا مانند pH، اندازه زیست توده و دما است. همچنین ثابت نشدن مقدار جذب و نرسیدن به سطح اشباع می‌تواند به دامنه غلظت کار شده مرتبط باشد. در سنجش توانایی

### جدول ۳- آزمون میانگین ضرایب *a* و *b* مدل خطی و ضریب *Bt* مدل تمکین در جذب آهن بر توده زیستی

#### باکتری‌ها.

$B_t$	$b$ ( $L \text{ mg}^{-1}$ )	$a$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	جذب کننده‌ها
$7/25^a$	$0/375^a$	$6/26^a$	<i>باسیلیوس سوبتیلیس</i>
$3/92^b$	$0/238^b$	$2/96^b$	<i>سودوموناس پوتیدا</i>

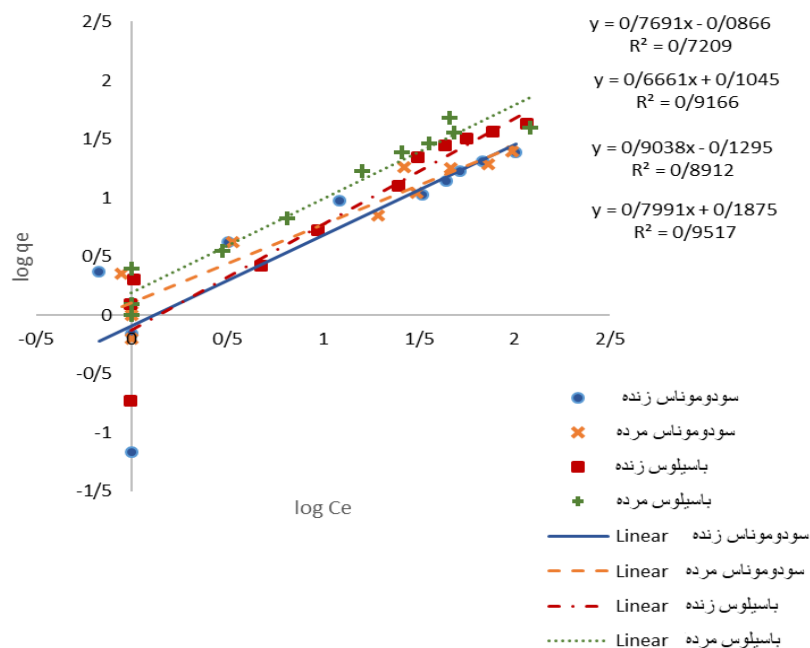
به هر گونه شکل ۱ نشان می‌دهد که توده زیستی مرده یا زنده باکتری *باسیلیوس سوبتیلیس* در هر غلظتی آهن بیشتری را از آبگوه جداسازی کرده و نگهداری می‌کند. پارامترهای مدل فروندلیچ

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان در پایه آماری ۵ درصد ناهمانندی چشمگیری ندارد.

<sup>8</sup>. *Cupriavidus necator*

فروندلیچ در جذب آهن چشمگیر نبود. بنابراین آزمون میانگین برای ضرایب مدل فروندلیچ انجام نشد. شکل ۲ نشان دهنده چگونگی دگرگونی لگاریتم غلظت تعادلی به ازای دگرش یک واحد از لگاریتم غلظت در جذب آهن در هر باکتری می باشد که روهمرفته توان بهتر توده مرده *باسیلیوس* را در جذب آهن نشان می دهد.

پس از مدل خطی، بالاترین نسبت ضریب تبیین به ریشه میانگین مربعات خطا در مدل فروندلیچ برای داده های جذب آهن بر توده مرده باکتری های آزمون شده، دیده شد (جدول ۱). در جدول ۲ تجزیه واریانس پیامد برهم کنش گونه باکتری، زنده بودن و برهم کنش آنها بر ضرایب مدل



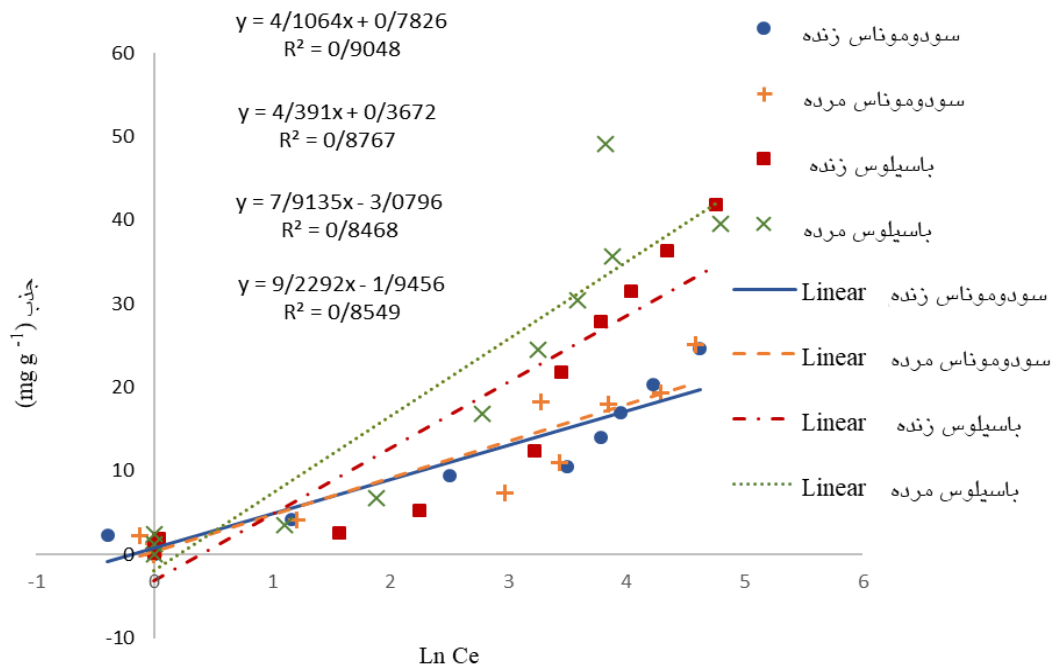
شکل ۲- همدمای فروندلیچ جذب آهن بر توده زنده و مرده باکتری های *سودوموناس پوتیدا* و *باسیلیوس*

### سوبتیلیس.

شکل ۳ نشان دهنده چگونگی جذب آهن در توده زیستی باکتری ها با دگرش لگاریتم طبیعی غلظت تعادلی آهن است. در این مدل توان توده زنده و مرده *سودوموناس پوتیدا* برای جذب آهن کمتر از توده زنده و مرده *باسیلیوس سوبتیلیس* است.

### پارامترهای مدل تمکین

مدل دیگری که برای شناخت فرایند جذب آهن در توده زنده و مرده باکتری ها به کار برده شد، مدل جذب تمکین بود. این مدل یکی از سه مدل شایسته برای برازش بر داده های جذب آهن بر زیست توده باکتری ها بود.



شکل ۳- همدمای تمکین جذب آهن بر توده زنده و مرده باکتری‌های سودوموناس پوتیدا و باسیلوس

### سوبتیلیس.

تجزیه واریانس ضرایب مدل تمکین نشان داد که تنها پیامد گونه باکتری بر ضریب  $B_1$  این مدل در پایه آماری ۱ درسد چشمگیر بوده است (جدول ۲). بنابراین آزمون میانگین تنها بر ضریب  $B_1$  مدل تمکین انجام شد، که در جدول ۳ گزارش شده است. اندازه میانگین ضریب  $B_1$  در باکتری باسیلوس سوبتیلیس نزدیک ۷/۲۵ برآورد شد که در برابر میانگین آن در باکتری سودوموناس پوتیدا با اندازه ۳/۹۲ به گونه چشمگیری بیشتر بود. هر چند بیشتر بودن ضریب  $B_1$  خود نشان از بهتر بودن توده زیستی باسیلوس سوبتیلیس برای جذب آهن دارد ولی در این مدل هر اندازه این ضریب بیشتر باشد، گرمای رها شده در فرایند جذب عنصر آهن کمتر است و این مایه پایداری کمتر آن پس از جذب در این باکتری می‌گردد.

### نتیجه گیری کلی

در این پژوهش رفتار جذب آهن (III) به کمک باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس و سودوموناس پوتیدا

در دو حالت زنده و مرده از محلول‌های دارای غلظت‌های افزایشی آهن در شرایط pH، دما، مقدار زیست توده ثابت بررسی شد، همدمای جذب آهن در باکتری‌ها نشان داد که از میان مدل‌های آزمون شده مدل خطی، فروندلیچ و تمکین شایسته هستند؛ ولی مدل خطی بهتر از دیگر مدل‌ها بر داده‌ها برازش شد. بررسی نمودارهای جذب و همچنین آزمون ضرایب معادله‌های خطی و تمکین نشان داد که باکتری باسیلوس سوبتیلیس کشش جذب بالاتر و توان نگهداری بهتری را برای جذب آهن از آبگونه دارد. ولی بررسی ضریب مدل تمکین نشان داد که گرمای رها شده در پی فرایند جذب در این باکتری در برابر سودوموناس پوتیدا کمتر است. به هر گونه باکتری باسیلوس سوبتیلیس با داشتن توانایی جذب بالاتر و همچنین کشش جذب بیشتر آهن از آبگونه در همه غلظت‌های کار شده جاذب شایسته‌تری بود. توانایی توده زنده و مرده باکتری باسیلوس سوبتیلیس در جذب آهن آن را

دو ساعت نیز بهره‌گیری شود. شاید به یافته‌های سودمندتری برای کاربرد توده‌های زیستی در پالایش پساب‌های کارخانه‌ای دست یابی شود.

#### سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه بوعلی سینا همدان که هزینه و همکاری لازم برای پیشبرد این پژوهش را داشته، سپاسگزاری می‌کنند. همچنین از شرکت دانش بنیان که در جداسازی زیتوده باکتری‌ها و شستشویی آنها همکاری داشته‌اند نیز سپاسگزاری می‌شود.

نامزد خوبی برای پژوهش در زمینه ساخت کود زیستی از این باکتری می‌کند که می‌تواند با جذب این عنصر از پساب‌های کارخانه‌ای و سپس کاربرد آنها در خاک آزمون شود. باکتری *باسیلیوس سوبتیلیس* گرم مثبت است و *سودوموناس پوتیدا* گرم منفی است، بنا به این ناهمانندی پیشنهاد می‌شود که بر نقش ساختار یاخته باکتری‌ها بر گنجایش و تندی جذب این عنصر پژوهش ویژه‌ای انجام شود. از آنجایی که مدل‌های بی پایان خطی و مدل فروندلیچ بر داده‌های جذب آهن بر توده زیستی باکتری‌ها بهتر پاسخ داد، شاید دامنه غلظت بکار رفته در این پژوهش کوچک باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود از دامنه‌های بزرگتر غلظت و زمان تعادل بزرگتر از

#### منابع مورد استفاده

- Abraham N, 2010. Adsorption of methylene blue and ferrous ion from aqueous solution using coconut husk. BSc Thesis, University Malaysia Pahang.
- Adamson AW and Gast AP, 1967. Physical Chemistry of Surfaces. Interscience publishers, New York.
- Ansari MI and Malik A, 2007. Biosorption of nickel and cadmium by metal resistant bacterial isolates from agricultural soil irrigated with industrial wastewater. *Bioresource Technology* 98(16):3149-3153.
- Ayangbenro AS and Babalola OO, 2017. A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14(1):94.
- Bansal RC and Goyal M, 2005. Activated Carbon Adsorption. CRC press, Boca Raton.
- Bautista LF, Pinilla J, Aracil J and Martínez M, 2002. Adsorption isotherms of aspartame on commercial and chemically modified divinylbenzene-styrene resins at different temperatures. *Journal of Chemical and Engineering Data* 47: 620-627.
- Bishnoi NR, Kumar R and Bishnoi K, 2007. Biosorption of Cr (VI) with *Trichoderma viride* immobilized fungal biomass and cell free Ca-alginate beads. *Indian Journal of Experimental Biology* 45(7):657-664.
- Cai YA, Li D, Liang Y, Luo Y, Zeng H and Zhang J, 2015. Effective start-up biofiltration method for Fe, Mn, and ammonia removal and bacterial community analysis. *Bioresource Technology* 176:149-155.
- Chen XC, Wang YP, Lin Q, Shi JY, Wu WX and Chen YX, 2015. Biosorption of copper (II) and zinc (II) from aqueous solution by *Pseudomonas putida* CZ1. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 46(2):101-107.
- Cotoras D, Viedma P, Cifuentes L and Mestre A, 1992. Sorption of metal ions by whole cells of *Bacillus* and *Micrococcus*. *Environmental Technology* 13(6):551-559.
- El-Naggar NE, Hamouda RA, Mousa IE, Abdel-Hamid MS and Rabei NH, 2018. Biosorption optimization, characterization, immobilization and application of *Gelidium amansii* biomass for complete Pb<sup>2+</sup> removal from aqueous solutions. *Scientific Reports* 8(1):13456.
- Freundlich H, 1907. Über die adsorption in lösungen. *Zeitschrift Für Physikalische Chemie* 57(1):385-470.
- Ghasemi FF, Dobaradaran S, Raeisi A, Esmaili A, Mohammadi MJ, Keshtkar M, Nasab SG and Soleimani F, 2016. Data on Fe (II) biosorption onto *Sargassum hystrix* algae obtained from the Persian Gulf in Bushehr Port, Iran. *Data in Brief* 9:823-827.
- Goel S, Malik JA and Nayyar H, 2009. Molecular approach for phytoremediation of metal-contaminated sites. *Archives of Agronomy and Soil Science* 55(4):451-475.

- Hansda A and Kumar V, 2015. Biosorption of copper by bacterial adsorbents: a review. *Research Journal of Environmental Toxicology* 9(2):45-58.
- Henze M, Harremoës P, Arvin E and la Cour Jansen J, 1999. *Wastewater Treatment. Biological and Chemical Processes*. China Architecture and Building Press, Beijing.
- Huang W and Liu ZM, 2013. Biosorption of Cd (II)/Pb (II) from aqueous solution by biosurfactant-producing bacteria: isotherm kinetic characteristic and mechanism studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 105:113-119.
- Kanamarlapudi SL and Muddada S, 2020. Biosorption of iron (II) by *Lactobacillus fermentum* from aqueous solutions. *Polish Journal of Environmental Studies* 29(2):1659-1670.
- Kobyas M, Demirbas E, Senturk E and Ince M, 2005. Adsorption of heavy metal ions from aqueous solutions by activated carbon prepared from apricot stone. *Bioresource Technology* 96(13):1518-1521.
- Kour D, Rana KL, Yadav AN, Yadav N, Kumar M, Kumar V, Vyas P, Dhaliwal HS and Saxena AK, 2020. Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 23:101487.
- Langmuir I, 1916. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. Part I. Solids. *Journal of the American Chemical Society* 38(11):2221-2295.
- Langmuir I, 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society* 40(9):1361-1403.
- Li X, Xiao Q, Shao Q, Li X, Kong J, Liu L, Zhao Z and Li R, 2023. Adsorption of Cd (II) by a novel living and non-living *Cupriavidus necator* GX\_5: optimization, equilibrium and kinetic studies. *BMC Chemistry* 17(1):54.
- Liu QS, Zheng T, Li N, Wang P and Abulikemu G, 2010. Modification of bamboo-based activated carbon using microwave radiation and its effects on the adsorption of methylene blue. *Applied Surface Science* 256(10):3309-3315.
- Lund P, Tramonti A and De Biase D, 2014. Coping with low pH: molecular strategies in neutralophilic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 38(6):1091-1125.
- Mane VS, Mall ID and Srivastava VC, 2007. Kinetic and equilibrium isotherm studies for the adsorptive removal of Brilliant Green dye from aqueous solution by rice husk ash. *Journal of Environmental Management* 84(4):390-400.
- McFarland J, 1907. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association* 49(14):1176-1178.
- Mohapatra RK, Parhi PK, Pandey S, Bindhani BK, Thatoi H and Panda CR, 2019. Active and passive biosorption of Pb (II) using live and dead biomass of marine bacterium *Bacillus xiamenensis* PbRPSD202: Kinetics and isotherm studies. *Journal of Environmental Management* 247:121-134.
- Nakajima A and Tsuruta T, 2004. Competitive biosorption of thorium and uranium by *Micrococcus luteus*. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 260(1):13-18.
- Nakajima A, Yasuda M, Yokoyama H, Ohya-Nishiguchi H and Kamada H, 2001. Copper biosorption by chemically treated *Micrococcus luteus* cells. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 17:343-347.
- Pardo R, Herguedas M, Barrado E and Vega M, 2003. Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas putida*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 376:26-32.
- Qin S, Ma F, Huang P and Yang J, 2009. Fe (II) and Mn (II) removal from drilled well water: A case study from a biological treatment unit in Harbin. *Desalination* 245(1-3):183-193.
- Quintelas C, Rocha Z, Silva B, Fonseca B, Figueiredo H and Tavares T, 2009. Removal of Cd (II), Cr (VI), Fe (III) and Ni (II) from aqueous solutions by an *E. coli* biofilm supported on kaolin. *Chemical Engineering Journal* 149(1-3):319-324.
- Sabae S, Hazaa M, Hallim S, Awny N and Daboor S, 2006. Bioremediation of Zn, Cu and Fe using *Bacillus subtilis* d215 and *Pseudomonas putida* biovar ad 225. *Bioscience Research* 3(1):189-204.
- Safari Sinangani AA, Sharifi Z and Safari Sinangani M, 2010. *Methods in Applied Microbiology*. Bu-Ali Sina University Press, Hamadan. (In Persian)
- Selatnia A, Boukazoula A, Kechid N, Bakhti MZ and Chergui A, 2004. Biosorption of Fe<sup>3+</sup> from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Process Biochemistry*. 39(11):1643-1651.

- Shokoohi R, Saghi M, Ghafari H and Hadi M, 2009. Biosorption of iron from aqueous solution by dried biomass of activated sludge. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* 6(2):107-114.
- Temkin MI, 1940. Kinetics of ammonia synthesis on promoted iron catalysts. *Acta Physiochim. URSS* 12:327-356.
- Tsezos M, Remoudaki E and Angelatou V, 1995. A systematic study on equilibrium and kinetics of biosorptive accumulation. The case of Ag and Ni. *International Biodeterioration and Biodegradation* 35(1-3):129-153.
- Uslu G and Tanyol M, 2006. Equilibrium and thermodynamic parameters of single and binary mixture biosorption of lead (II) and copper (II) ions onto *Pseudomonas putida*: effect of temperature. *Journal of Hazardous Materials* 135(1-3):87-93.
- Vijayaraghavan K and Yun YS, 2008. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances* 26(3):266-291.
- Wang J and Chen C, 2006. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review. *Biotechnology Advances* 24(5):427-451.
- Zouboulis AI, Loukidou MX and Matis KA, 2004. Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. *Process Biochemistry* 39(8):909-916.